王浆中游离氨基酸的测定*

ANALYSIS OF FREE AMINO ACIDS IN ROYAL JELLY

夏 邦 頴

HSIA PANG-YING

(中国科学院动物研究所)

(Institute of Zoology, Academia Sinica)

一、前言

王浆系蜜蜂工蜂头部腺体的分泌物(究竟为何种腺体所分泌迄今尚有爭議),是蜂王終生和蜜蜂幼虫早期的食物。自从王浆的医疗效用被发現以来,各国对王浆的物理性质,化学成分,生理性能和医疗效应等方面都曾进行广泛的研究。王浆的化学分析已証明它是含有多种物质的混合物。Pratt 和 House (1949)以及 Ammon 和 Zoch (1957)曾分别測定了王浆游离氨基酸成分,但結果并不完全一致。氨基酸是生物生长发育时必需的要素,明确王浆中游离氨基酸的成分,可以为了解王浆的营养价值以及它在蜜蜂生长,发育和生殖等各方面的生理作用提供参考資料。

二、材料和方法

本实驗于 1959 年夏季在北京进行,实驗用意大利蜂羣放养于本所农場。依人工养王法生产新鮮王浆,取用移虫后 40—48 小时生产的王浆,收集后即进行測定。每次取出約 2 毫升王浆加入等量蒸餾水稀释,并加入 8 毫升 95% 乙醇溶液搅拌, 經离心分离,除去沉淀的蛋白质,傾出的上清液重复离心一次,将王浆的乙醇提取液(上清液)倾出,用冷风浓縮备用。

实驗在暗室中进行。所用层析滤紙为 Whatman No. 3 (30 × 30 厘米)。层析溶剂: 第一向层析溶剂用正丁醇:冰醋酸:水(4:1:5)。第二向层析溶剂用酚:水(2:1),作单向及 双向对照氨基酸的測定。

将王浆的乙醇提取液样品点滴到滤紙上,用吹风机干燥,第一向层析完毕,待其阴干后进行第二向层析。层析后显色,显色剂用 0.1 %水合茚三酮的正丁醇溶液显色。

三、結果和討論

本实驗測定出王浆含有 14 种游离氨基酸,列入表 1,表中并摘录 Pratt 和 Ammon 的分析結果,以資比較。

^{*} 本工作承蒙郭郛先生亲切指导,并修改文稿,謹志謝意。 (本文于1962年12月8日收到)。

实驗結果	本实驗結果	Pratt 和 House	Ammon 和 Zoch
丙 氨 酸		+	
精 氨 酸	+	+	+
天門冬氨酸	+	+	+
胱氨酸和/或半胱氨酸	+		
谷氨酸	+	+	+
甘氨酸		+	+ .
組氨酸	+		
亮氨酸和/或异亮氨酸	+	+	+
賴 氨 酸	+	+	+
蛋氨酸和/或缬氨酸	+	+/+	+
脯 氨 酸	+	+	+
絲 氨 酸	+	+	+
酪氨酸	+	+	
β-丙氨酸	+	+ .	+
谷 酰 胺	+	+	
牛 磺 酸	+	+	
7-氨基丁酸			+
未 知	+	+	
附: 螢光物盾	3 种		

表 1 王漿中游离氨基酸的成分

本实驗所測定的游离氨基酸与 Pratt 和 Ammon 等人的两項結果相同的种类有: 精氨酸、天門冬氨酸、谷氨酸、組氨酸、亮氨酸 (和/或异亮氨酸)、賴氨酸、蛋氨酸 (和/或纈氨酸)、脯氨酸、絲氨酸和 β -丙氨酸。而酪氨酸、谷酰胺和牛磺酸为本实驗与 Pratt 的結果所共有,但是不存在于 Ammon 的結果中。在本实驗結果中未显出有甘氨酸。

Pratt 和 Ammon 曾分別分析出丙氨酸和 γ-氨基丁酸存在于王浆中。本实驗測定出 王浆中含有胱氨酸 (和/或半胱氨酸) 和組氨酸。上述的这几种氨基酸分别被各研究者分析出来,这很可能是由于:一种氨基酸如果存在于王浆中是否能被定性的測出,将取决于 它存在于样品中的量是否达到用紙层析法測定时所需要的最低感量閾限,至于本实驗所 測定的胱氨酸(和/或半胱氨酸)和組氨酸則是經常存在于样品中。

比較各种氨基酸在层析显色后所占面积及其顏色,王浆中游离氨基酸以脯氨酸,賴 氨酸为最多, β -丙氨酸次之。

从分析出的游离氨基酸种类可以看出,为維持生长发育和正常生理功能所必需的氨基酸,大部分都以游离的形式存在于王浆中,所缺少的几种氨基酸如:苯丙氨酸,苏氨酸和色氨酸皆以結合的形式存在于王浆的蛋白质中(Pratt 等1949; Weaver 等1951)。可見王浆中氨基酸的成分供应了蜜蜂生长,发育和生殖的正常生理代謝过程所需要的大部分氨基酸种类。

牛磺酸在脊椎动物体內由半胱氨酸形成,是动物胆汁盐的綴合成分(Baldwin 1959), 在无脊椎动物肌肉組織中大量存在,也存在于蜜蜂幼虫的血液中,而王浆中也有着游离的 牛磺酸是很值得注意的,它的来源和对蜜蜂的作用尚不清楚。 各研究者分处各洲,分析所得到的游离氨基酸成分,彼此相近,这很可能意味若早期 生产的王浆游离氨基酸是工蜂头部腺体的正常生理分泌物,在一定程度上受当地季节和 蜜源成分的影响。

測定王浆游离氨基酸的层析紙在显色之前,利用紫外光对氨基酸作初步观察时,发现有非氨基酸的蓝色螢光两点,黄色螢光一点,表明在王浆中有三种螢光物质存在,尚不知为何种物质。 Butenandt 等人(1958)曾在王浆中分离并鉴定出一种生物喋啶: 2-氨基-4-羟基-6(L-蓝色-1,2-二羟基丙醇)-喋(呤)啶。 此种物质在紫外光下发弱蓝色螢光,是否即是本实驗中測定的蓝色螢光物质之一有待証实。

参考文献

夏邦穎, 1960。蜜蜂王浆。科学通报 1960 (19): 597-600。

Ammon, R. & Zoch, E., 1957. Zur Biochemie des Futtersaftes der Bienenkönigin. Arzneimitt-Forschung 7: 699-702.

Baldwin, E., 1959. Dynamic Aspects of Biochemistry. Third Edition. Cambridge, Cambridge University Press.
Butenandt, A. & H. Rembold. 1958. Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene II. Isolierung von 2-Amino-4-hydroxy-6-[1,2-dihydroxy-propyl]-pteridin. Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem. 311:79—83.

Gilmour, D., 1961. Biochemistry of insects. N. Y., Academic Press.

Pratt, J. J. Jr. & House. H. L., 1949. A qualitative analysis of the amino acids in royal jelly. Science 110(7):9-10.

Weaver, N. & Kuiken, K. A., 1951. Quantitative analysis of royal jelly and some pollens. J. econ. Ent. 44(5):635-8.